

トゲバラタナゴ（タナゴ亜科魚類）の染色体研究

上田 高嘉, 高橋 保夫, 新井 良一

宇都宮大学教育学部研究紀要 第68号 別刷

2018年2月28日

トゲバラタナゴ (タナゴ亜科魚類) の染色体研究

Chromosomal studies of *Rhodeus spinalis*
(Pisces, Acheilognathinae)

上田 高嘉¹, 高橋 保夫², 新井 良一³

UEDA Takayoshi, TAKAHASHI Yasuo, ARAI Ryoichi

概要 (Summary)

Bitterlings are freshwater fish species ascribed to the subfamily Acheilognathinae (Cyprinidae), and are distributed throughout East Asia, and more widely in Eurasia. Due to the abundance of species and easy doing of artificial fertilization, many cytogenetic experiments in bitterlings were tried for the purpose of clarification on the phylogenetic relationships of bitterlings, the mechanism of species differentiation and karyotype evolution, and others. On the other hand, bitterlings illustrate the symbiosis between humans and nature, because the habitats of them are closely related to human activities. And, many kinds of bitterlings are endangered species. Preservation of such an environment as “Satoyama” is an important issue; a study of bitterlings would provide a good example to grasp the biodiversity and ecosystems of this environmentally sensitive area.

The accumulation of basic biological information is important in a series of study using bitterlings. In the present report, the karyotype of *Rhodeus spinalis* collected in Hainan Island (China) and Hanoi (Vietnam) was analyzed. All specimens showed $2n=48$, consisting 8 metacentrics (M) 20 submetacentrics (SM) and 20 subtelocentrics (ST). Ag-banded nucleolar organizer regions (Ag-NORs) at the terminal region of the short arm in two pairs of ST (third and tenth) were recognized. The regions of Ag-NORs were corresponding to intense C-bands. There were no sex chromosomes. This is the first report on the karyotype of *R. spinalis*.

キーワード：タナゴ亜科魚類, *Rhodeus spinalis*, 核型, Ag-NORs, C-band

タナゴ類 (タナゴ亜科魚類) は東アジアを中心に世界に約80種/亜種が淡水に生息する (Froese and Pauly, 2013)¹). *Acheilognathus*, *Rhodeus* および *Tanakia* の3属に分類され (Arai and Akai, 1988)²). 日本産は18種/亜種が認められている。種類数が多いことに加え、細胞レベルにおける基本的な性質は哺乳類と共通しており、水槽内での飼育が容易で人工授精も簡単に行えるなど、実験動物、教材としての利用価値は高い。種分化および核型進化機構の解明 (Ueda, Naoi and Arai, 2001³ ; Kawamura et al., 2014⁴), 細胞遺伝毒性試験を応用した水質汚染モニタリング (Hayashi et al., 1988)⁵, 理科教育 (上田ら, 2016)⁶ への活用などがある。有用魚作出法の開発あるいは稀少種の保存・増殖の検討などの目的でもタナゴ類を用いての検討が進められてきた。

¹ 宇都宮大学教育学部 (連絡先: ueda@cc.utsunomiya-u.ac.jp 上田高嘉)

² 栃木県立高根沢高等学校

³ 東京大学総合研究博物館

また、2013年の環境省レッドリストによると、日本産のほとんどが絶滅危惧類に挙げられている。タナゴ類の生息は、一般に、農業活動と関連し、私たち人間の生活に適応してきた。絶滅の危機に瀕している現状は、農業活動の変化に伴って行き場を失った結果と考えられる。環境保全の在り方を検討する上でも優れた対象と考えられ、環境教育への活用においてもより詳細な性質を蓄積することの意義は大きい。理科教育、環境教育の推進にとって、核型をはじめ基礎生物学的な知見は貴重なデータとなる。

そこで本論では、研究の一環として、これまでに報告のないトゲバラタナゴ *Rhodeus spinalis* の染色体の分析を行った。

材料および方法

海南島(中国)およびハノイ(ベトナム)産のトゲバラタナゴ *Rhodeus spinalis* の染色体分析を行った。

以下の方法により、原腸胚の細胞を用いて空気乾燥染色体標本を作製した。

- ① 人工授精後 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ の恒温器で卵を保温し、原腸胚期に卵をプラスチックペトリ皿に入った魚類用塩類溶液 (DIW 1リットルに NaCl 7.86g, KCl 0.28g, CaCl_2 0.354g, NaHCO_3 0.02g を溶解) 中にとり、卵膜と卵黄を取り除いた胚細胞を培養液 (Eagle's MEM 培地に5%の割合で牛胎仔血清を加えた液1リットルに 3.57g の HEPES および 0.05g のコルヒチンを溶かし、 NaHCO_3 で pH7.0 に調整) の入った 1.5ml 用マイクロチューブに移し、約40分間 28°C の恒温器の中で静置した。
- ② 上澄を捨て、1ml の0.6% クエン酸ナトリウム水溶液を加え、マイクロピペット用チップで2分間穏やかに攪拌した。
- ③ 3:1のエタノール-酢酸を 0.5ml加え、チップで10秒間穏やかに攪拌した後、1,200rpm で7分間遠心した。
- ④ 上澄を捨て、3:1のエタノール-酢酸を 1.5ml加え、チップで10秒間穏やかに攪拌した後、1,200rpm で7分間遠心した。
- ⑤ 上澄を捨て、1:1のエタノール-酢酸液を1.0ml加え、チップで10秒間穏やかに攪拌した後、1,200rpm で7分間遠心した。
- ⑥ 上澄を捨て、裏面を水で濡らしたスライドガラスの上に1滴滴下し、自然乾燥させた。

標本には通常のギムザ染色を行い、染色体の分類は Levan, Fredga and Sandberg (1964)⁷⁾ の方法に従った。また、銀染色法 (Howell and Black)⁸⁾ を適用して Ag-NORs (銀染色により濃染される染色体上の核小体形成部位) を観察した。さらに、Sumner (1972)⁹⁾ の方法に従って C-バンド染色を施し、構成的異質染色質の位置を観察した。

結果および考察

海南島、ハノイ産において核型に相違は認められず、染色体数は48本 ($2n$) で、メタセントリック (M) 染色体が8本、サブメタセントリック (SM) 染色体が20本、サブテロセントリック (ST) 染色体が20本であった (Fig. 1)。Ag-NORsは4本 (2対:3番と10番) のST染色体の短腕の端部に認められた (Fig. 2b)。この部位はC-バンド濃染でもあった (Fig. 2c)。性染色体の存在は認められなかった。

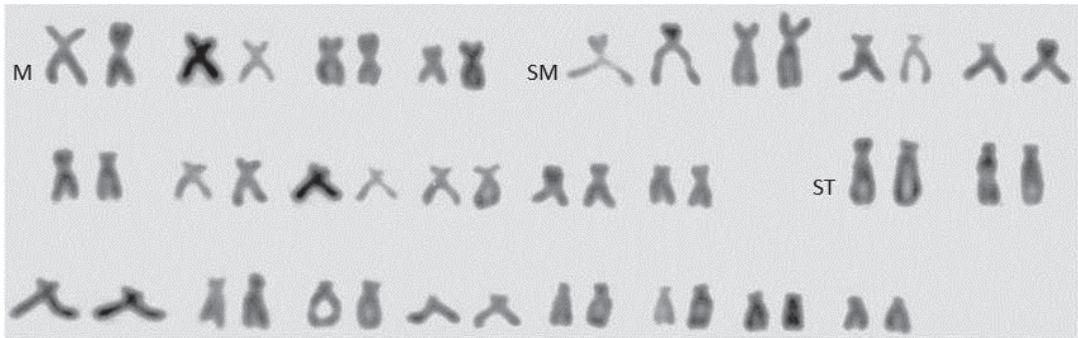


Fig. 1. Karyotype of *Rhodeus spinalis*. Conventional Giemsa stain,

種分化および核型進化機構の解明のほか、実験動物としての活用、理科教育の推進にとって、核型をはじめ基礎核生物学的な知見は貴重なデータとなる。また、環境保全において「生物多様性」が重要視されており、「総合学習」のテーマとしても取り上げられている。私たちにとって安全で健全な環境を維持していくためには生物多様性の確保を図ることが重要とされ、生物多様性の保全においては種の絶滅を防ぐ方法を求めることが課題になっている。タナゴ類が適応してきた「人間と自然の共生」の上に成り立つ「里地・里山」が生物多様性にとっての模範的な持続可能システムとして見直されており、特にタナゴ類から得られる情報は環境教育の推進にとっても重要であると考えられる。

謝辞

本研究に用いた中国産の採集には上海海洋大学の伍漢霖教授並びに鐘俊生教授に一方ならずお世話いただきました。また、ベトナム産については観音崎自然博物館様からご提供いただきました。本研究の一部は科学研究費補助金 (B (2) 10041156, B (1) 12575009) により行いました。ここに厚く御礼申し上げます。

文献

- 1) R. Froese and D. Pauly, World Wide Web electronic publication. URL: <http://www.fishbase.org> (2013).
- 2) R. Arai and Y. Akai, Bulletin of the National Science Museum, Tokyo (A), 14, 199-213 (1988).
- 3) T. Ueda, H. Naoi and R. Arai, Genetica 111: 423-432 (2001).
- 4) K. Kawamura, T. Ueda, R. Arai and C. Smith, Zool.Sci., 31: 321-329 (2014).
- 5) M. Hayashi, T. Ueda, K. Uyeno, K. Wada, N. Kinae, K. Saotome, N. Tanaka, A. Takai, Y. F. Sasaki, N. Asano, T. Sofuni and Y. Ojima, Mutat. Res. 399: 125-133 (1988).
- 6) 上田高嘉・深田陽平・岡戸陽子・滝沢宏之・飯郷雅之・松田勝, 宇大教育紀要, 66 II : 13-19 (2016).
- 7) A. Levan, K. Fredga and A. A. Sandberg, Hereditas 52: 201-220 (1964).
- 8) W. M. Howell and D. A. Black, Copeia 1979: 544-546 (1979).
- 9) A. T. Sumner, Exp. Cell. Res. 75: 304-306 (1972).

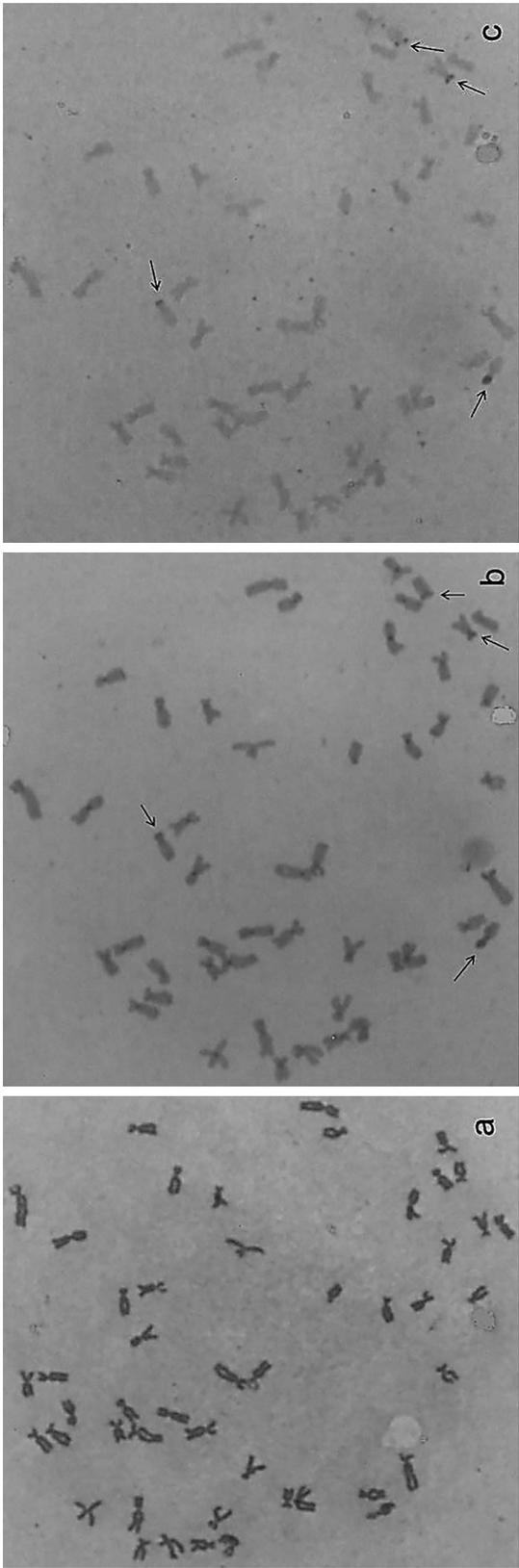


Fig. 2. Three patterns obtained from the same metaphase. Conventional Giemsa (a), C-band (b) and Ag stain (c). Arrows indicate intense bands of NORs (b and c).

Chromosomal studies of *Rhodeus spinalis*
(Pisces, Acheilognathinae)

UEDA Takayoshi, TAKAHASHI Yasuo, ARAI Ryoichi